

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
25. April 2002 (25.04.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/32559 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: B01D 71/10, 71/16, 69/12, 69/14

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): INVERNESS MEDICAL LIMITED [GB/GB]; Beechwood Business Park, Inverness JV2 3ED (GB).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/12073

(22) Internationales Anmeldedatum:
18. Oktober 2001 (18.10.2001)

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): STIENE, Matthias [DE/GB]; 66 Crown Drive, Inverness IV2 3QG (GB). VON TIEDEMANN, Birgit [DE/GB]; 4 B Argyle Terrace, Inverness, IV2 3HN (GB). RODERS, Jamie [GB/GB]; 30 Stratherrick Road, Lochardil, Inverness IV2 4LL (GB). MACGREGOR, Lucy [GB/GB]; 92 Miller Street, Inshes Park, Inverness IV2 3DL (GB). MCALEER, Jerry [GB/GB]; 52 Nobels Close, Grove (Oxon) OX12 ONR (GB). MCNEILAGE, Alan [GB/GB]; 31 Firth View Road, Inverness, IV3 8LZ (GB).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

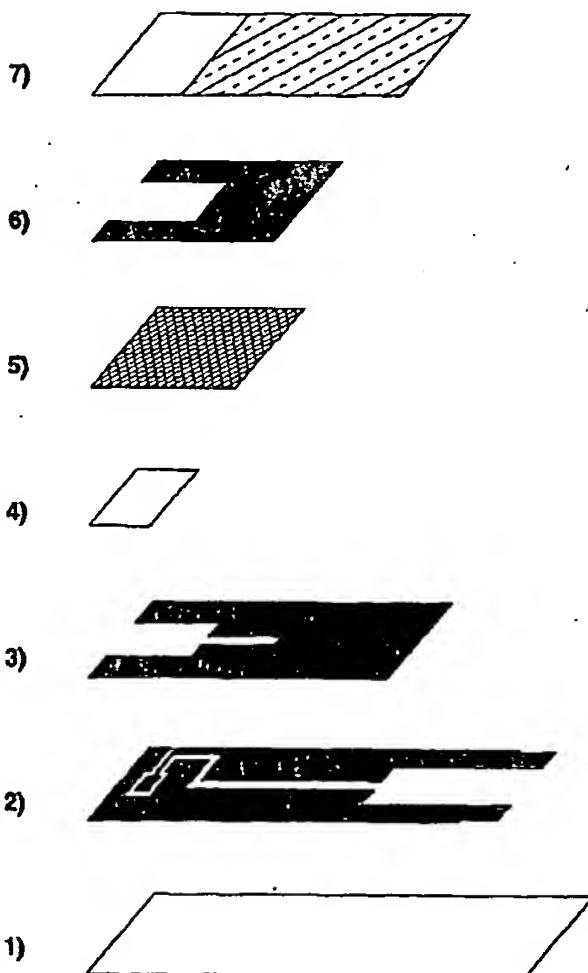
(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 52 066.9 19. Oktober 2000 (19.10.2000) DE

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: PASTE, WHICH CAN UNDERGO SCREEN PRINTING, FOR PRODUCING A POROUS POLYMER MEMBRANE FOR A BIOSENSOR

(54) Bezeichnung: SIEBDRUCKFÄHIGE PASTE ZUR HERSTELLUNG EINER PORÖSEN POLYMERMEMBRAN FÜR EINEN BIOSENSOR



(57) Abstract: The invention relates to a paste, which can undergo screen printing, for producing a porous polymer membrane. Said paste contains at least one polymer, one or more solvents for the polymer having a boiling point of > 100 °C, one or more non-solvents for the polymers (pore-forming agents) having a higher boiling point than that of the solvent(s), and contains a hydrophilic viscosity modifier.

(57) Zusammenfassung: Siebdruckfähige Paste zur Herstellung einer porösen Polymermembran, enthaltend wenigstens ein Polymeres, ein oder mehrere Lösungsmittel für das Polymere mit einem Siedepunkt von > 100 °C, ein oder mehrere Nichtlösungsmittel für das Polymere (Porenbildner) mit einem höheren Seidepunkt als das/die Lösungsmittel und einen hydrophilen Viskositätsmodifizierer.

WO 02/32559 A1



(74) **Anwalt:** CARPMAELS & RANSFORD; 43 Bloomsbury Square, London WC1A 2RA (GB).

ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(81) **Bestimmungsstaaten (national):** AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen
- insgesamt in elektronischer Form (mit Ausnahme des Kopfbogens); auf Antrag vom Internationalen Büro erhältlich

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Siebdruckfähige Paste zur Herstellung einer
porösen Polymermembran für einen Biosensor

Die vorliegende Erfindung betrifft eine siebdruckfähige Paste zur Herstellung einer porösen Polymermembran, welche bei elektrochemischen Sensoren, insbesondere bei elektrochemischen Biosensoren, zur integrierten Vorbereitung von insbesondere Vollblutproben verwendet werden kann.

Biosensoren finden bereits in einer Vielzahl diagnostischer Verfahren, beispielsweise bei der Bestimmung der Konzentration verschiedener Faktoren in Körperflüssigkeiten, wie dem Blut, Anwendung. Angestrebt werden dabei Sensoren, die keine aufwendige Aufarbeitung der (Blut-)Probe erfordern, sondern bereits durch bloßes Auftragen der Körperflüssigkeit auf einen Teststreifen ein schnelles Ergebnis liefern. Dabei läuft eine spezifische biochemische Reaktion ab, wie beispielsweise die enzymatische Umsetzung der zu bestimmenden Komponente, welche dann einen Elektronentransfer zwischen verschiedenen Elektroden (Arbeits- und Referenzelektroden) bewirkt, der quantitativ bestimmt werden kann.

Nachteilig an den meisten bekannten elektrochemischen Biosensoren ist, dass beim Auftragen des Blutes auf den dafür vorgesehenen Bereich des Teststreifens die ablaufende biochemische Reaktion durch andere, im Blut enthaltene Bestandteile, vor allem die roten Blutkörperchen (Erythrozyten), beeinflusst wird. So ist beispielsweise bei hohen Hämatokritwerten (= Volumenanteil der Erythrozyten an der gesamten Blutmenge in Vol.Gew.-%) der mit Hilfe von herkömmlichen Blutglucosesensoren gemessene Glucosewert niedriger als der tatsächliche Wert. Diese Beeinträchtigung entsteht dadurch, dass die Erythrozyten durch Adsorption an der reaktiven Schicht des Biosensors die Diffusion der Glucose in diese und zur Elektrode beeinflussen und das Messsignal verringern.

Zur Lösung dieses Problems wurden verschiedene Membranen vorgeschlagen, die über der auf den Elektroden angeordneten Enzymschicht des Teststreifens aufgebracht werden, um die Erythrozyten von dieser fernzuhalten.

So beschreibt beispielsweise das US-Patent 5,658,444 eine Erythrozytenausschlussmembran für einen Sensor, welche aus einem wasserunlöslichen, hydrophoben Polymeren, einem wasserlöslichen hydrophilen Polymeren und einem Erythrozytenaggregationsagens besteht und durch Aufsprühen auf die Oberfläche des Teststreifens hergestellt wird.

Nachteilig bei dieser Membran ist zum einen, dass der Porendurchmesser der Membran in Abhängigkeit der Sprühdistanz und des Aufsprühdruckes variiert. Außerdem bedeutet das Aufsprühen der Membran bei der Produktion des Teststreifens einen zusätzlichen, von der Herstellung des übrigen Teststreifens verschiedenen und deshalb aufwendigen Arbeitsgang, was den Produktionsvorgang verkompliziert und damit verteuert.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es deshalb, eine Paste zur Herstellung einer porösen Membran zur Verfügung zu stellen, welche die genannten Nachteile nicht aufweist, indem

sie während des Herstellungsprozesses des Biosensors durch ein sich in den übrigen Ablauf einfügendes Verfahren und deshalb kostengünstig aufgebracht werden kann und eine Membran mit gleichbleibender Porengröße liefert.

Diese Aufgabe wird durch eine Paste für eine poröse Polymermembran gemäß Anspruch 1 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen ergeben sich aus den Ansprüchen 2 bis 18.

Im folgenden wird die Erfindung anhand der Figuren erläutert, wobei

Figur 1 schematisch den Aufbau eines Teststreifens mit der erfindungsgemäßen Membran zeigt,

Figur 2 eine rheologische Charakteristik der erfindungsgemäßen Paste zeigt,

Figur 3a eine elektronenmikroskopische Aufnahme einer Polymermembran mit unzureichend ausgebildeter Porenstruktur zeigt,

Figur 3b eine elektronenmikroskopische Aufnahme der erfindungsgemäßen Polymermembran mit gut ausgebildeter Porenstruktur zeigt,

Figur 4 die Messergebnisse zweier Biosensoren, wobei einer von ihnen mit einer erfindungsgemäßen Membran versehen ist, bei ansteigenden Hämatokritwerten im Vergleich zeigt,

die Figuren 5a bis 5d die klinische Performanz vierer Blutglucosesensoren im Vergleich zeigen.

In Figur 1 ist der Aufbau eines Teststreifens mit der erfindungsgemäßen Polymermembran dargestellt. Auf einem Polyester-Trägermaterial 1 befindet sich eine Elektrodenanordnung 2 in Form einer Kohlenstoffschicht, die wiederum teilweise von einer Isolierung 3 abgedeckt wird. Eine Enzym- und Mediatorschicht 4 ist auf dem Bereich der Elektrodenschicht angeordnet, der von der Isolierung freigelassen wird. Im Falle eines Blutglucosesensors enthält diese Schicht beispielsweise das Enzym Glucoseoxidase und den Mediator Fe^{3+} . Die erfin-

dungsgemäße Polymermembran 5 ist über der Enzym- und Mediatorschicht 4 angeordnet. Das ganze wird durch eine Klebeschicht 6 und eine Deckelfolie 7 abgedeckt.

Bei der Massenherstellung von Biosensoren wird für das Aufdrucken der verschiedenen Schichten, wie Elektroden-, Isolier- und Enzymschichten, das Siebdruckverfahren angewendet. Die vorliegende Erfindung stellt eine Membran zur Verfügung, die mit der gleichen Technik aufgebracht werden kann. Das hat einerseits den Vorteil, dass für das Aufdrucken der Membran und damit während des gesamten Herstellungsprozesses des Sensors die gleiche Siebdruckvorrichtung verwendet werden kann, was bei der Massenproduktion enorme ökonomische Vorteile mit sich bringt. Zum anderen kann durch das Siebdruckverfahren reproduzierbar eine Membran gleichmäßiger Dicke und Porengröße hergestellt werden, was mit den anderen Methoden, wie Aufspinnen, Eintauchen oder Aufsprühen nicht gewährleistet ist.

Damit die zur Herstellung der Polymermembran verwendete Paste durch Siebdruck aufgebracht werden kann, müssen das oder die darin enthaltenen Lösungsmittel für das Polymere einen möglichst hohen Siedepunkt (über 100 °C) aufweisen, um das vorzeitige Trocknen des Materials in der Druckmaschine zu vermeiden. Außerdem enthält die Paste ein Nichtlösungsmittel für das Polymere, das als Porenbildner fungiert und einen höheren Siedepunkt als das oder die verwendeten Lösungsmittel aufweist.

Zudem muss die Paste eine geeignete Viskosität (30.000 - 50.000 cpi) besitzen, um einen gleichmäßigen Fluss durch das Sieb während des Aufdruckens zu gewährleisten. Bevorzugt verringert sich die Viskosität der Paste bei Einwirkung von Scherkräften, wie in der rheologischen Charakteristik in Figur 2 dargestellt.

Als Polymeres wird in der erfindungsgemäßen Paste bevorzugt Zelluloseacetat (50 kDa) verwendet. Es ist bevorzugt mit

einem Anteil von etwa 8 Gew.-% in der siebdruckfähigen Paste enthalten. Außerdem kann als weiteres Polymeres Zellulosenitrat mit einem Anteil von bis zu 10 Gew.-% enthalten sein.

Als Lösungsmittel für das Polymere können beispielsweise 1,4-Dioxan (Siedepunkt 102 °C) und/oder 4-Hydroxymethylpentanon (Siedepunkt 165 °C) verwendet werden. Eine bevorzugte Zusammensetzung enthält 0 - 20 Gew.-%, bevorzugter 20 Gew.-%, 1,4-Dioxan und 0 - 70 Gew.-%, bevorzugter 56 Gew.-%, 4-Hydroxymethylpentanon, wobei das 4-Hydroxymethylpentanon alternativ durch Ethylacetat oder Ethylenglycoldiacetat ersetzt sein kann.

Es stellte sich heraus, dass als Porenbildner für die siebdruckfähige Membranpaste langkettige Alkohole mit einem Siedepunkt von > 150 °C geeignet sind; bevorzugt werden n-Octanol, welches einen Siedepunkt von 196 °C aufweist, und/oder 2-Methyl-2,4-pentandiol (MPD), welches einen Siedepunkt von 197 °C aufweist, verwendet.

Bei Verwendung von 2-Methyl-2,4-pentandiol (MPD) als Porenbildner ist die Paste etwas toleranter gegenüber dem Abdampfen von Dioxan. Auch bleibt das Zelluloseacetat länger in Lösung, wodurch sich der Zeitraum verlängert, in dem die Paste in druckfähigem Zustand bleibt. Diese verlängerte "Potzeit" ermöglicht die Produktion größerer Chargen mit gleichbleibender Qualität.

Der Porenbildner sollte mit einem Anteil von 5 - 20 Gew.-%, bevorzugt 12 - 15 Gew.-%, enthalten sein.

Als Viskositätsmodifizierer werden beispielsweise hydrophile Kiesel-Xerogele oder äquivalente "Fumed Silicas", Bentonite Clay, Natrosol oder Carbon Black verwendet. Sie sollten mit einem Anteil von 1 bis 10 Gew.-% der siebdruckfähigen Paste zugesetzt werden. Bevorzugt werden hydrophile Cab-O-Sile (Handelsbezeichnung für Kiesel-Xerogele, vertrieben durch das Unternehmen Cabot), wie Cab-O-Sil M5, Cab-O-Sil

H5, Cab-O-Sil LM150, Cab-O-Sil LM130, mit einem Anteil von 4 Gew.-% verwendet.

Außerdem können weitere Zusatzstoffe, wie Tween 20, Triton X, Silvet 7600 oder 7280, Laurylsulfat (SDS), andere Detergenzien sowie Polyole, wie Glycerol, oder hydrophile Polymere, wie Polyvinylpyrrolidon (PVP) bzw. Vinylpyrrolidon-Vinylacetat-Copolymere (PVP/VA) der erfindungsgemäßen Paste zugesetzt werden.

Der Zusatz eines oder mehrerer dieser Zusatzstoffe ist nicht obligatorisch für die Herstellung der Membran; es zeigte sich jedoch, dass sie das Benetzen der Membran verbessern und die Sensorantwort beschleunigen können. Bevorzugt wird PVP/VA oder PVP mit einem Anteil von 0,1 Gew.-% in der siebdruckfähigen Paste verwendet.

Außerdem kann die Zugabe der Additive Bioterge, Polyethylenimin, BSA, Dextran, Dicyclohexylphthalat, Gelatine, Sucrose und/oder Biuret die Separation von Erythrozyten und Plasma verbessern.

Zudem ist es möglich, der Zelluloseacetatpaste bereits Enzym, beispielsweise Glucoseoxidase, zuzusetzen, so dass im Herstellungsprozess des Biosensors das Aufdrucken der Enzymschicht entfallen kann.

Nach dem Aufbringen einer gleichmäßigen Schicht der Druckpaste auf ein geeignetes Substrat bildet sich die Membran im Trocknungsprozess. Es bildet sich eine poröse Schicht und kein geschlossener Film, da die verwendeten Lösungsmittel einen niedrigeren Siedepunkt besitzen als der Porenbildner; entsprechend schnell verdampfen die Lösungsmittel und das Zelluloseacetat-Polymere fällt in dem verbliebenen Film des Porenbildners aus.

In Verbindung mit einem Biosensor darf in dem Trocknungsprozess jedoch nicht eine beliebig hohe Temperatur verwendet werden, da bei zu hohen Temperaturen die verwendeten

Enzyme / Proteine denaturiert werden. In Verbindung mit einem Biosensor zur Bestimmung von Glucose im Vollblut wurden mit einer Trocknungstemperatur von etwa 70 °C die besten Ergebnisse erzielt. Entsprechend sollten die Siedepunkte der verwendeten Lösungsmittel und Porenbildner ausgewählt werden.

Einen entscheidenden Faktor für die Porenbildung spielt der verwendete Viskositätsmodifizierer, der zusammen mit dem Porenbildner ein Gel bildet, um die Polymerstruktur zu stabilisieren. Bei den verwendeten Substanzen entsteht das Gel durch die Wechselwirkung zwischen den OH-Gruppen des Kieselxerogels und dem langkettigen Alkohol (z.B. Octanol). Die Menge und die Verteilung des Gels, das während des Trocknungsprozesses entsteht, entscheidet schließlich über die Größe und die Form der sich ausbildenden Poren.

Ohne Zugabe eines Viskositätsmodifizierers bildet sich aus dem Lösungsmittel und dem Porenbildner eine Emulsion, da der Porenbildner alleine nicht in der Lage ist, das Polymerskelett zu stabilisieren. Als Resultat erhält man einen weißen, glatten und unstrukturierten Film mit eingeschlossenem Porenbildner, der keinen lateralen Flüssigkeitstransport erlaubt. Im Vergleich dazu erhält man einen klaren Film, wenn kein Porenbildner in der Paste verwendet wird.

Bei Verwendung zu geringer Mengen an Viskositätsmodifizierer (< 1 Gew.-%) erhält man eine Membran mit nur unzureichend ausgebildeter Porenstruktur, wie sie in Figur 3a wiedergegeben ist.

Da die verschiedenen geeigneten Viskositätsmodifizierer unterschiedliche Oberflächeneigenschaften aufweisen, kann der Viskositätsmodifizierer in Abhängigkeit der gewünschten Membran oder des gewünschten Biosensors ausgewählt werden. Beispielsweise wird das Cab-O-Sil H5 bei hoher mechanischer Belastung, z. B. bei langen Druckzeiten oder beim Drucken sehr dünner Schichten mit hohem Rakeldruck, "zerrieben". Die Ober-

fläche zeigt dann mikroskopisch scharfe Bruchkanten, die zur Lysierung der roten Blutzellen führen können.

Für einen Blutzuckersensor ist dies eine unerwünschte Eigenschaft, da dadurch der Grundstrom des Sensors erhöht wird. Andererseits kann dieser Effekt optimiert und das Plasma von Zellen direkt im Sensor für die elektrochemische Detektion genutzt werden. Ein praktisches Beispiel wäre die Bestimmung von Hämoglobin in Erythrozyten. In diesem Fall reagiert der Mediator des Biosensors, z. B. Kaliumhexacyanoferrat(III), mit der Fe(II)-Gruppe des Hämoglobins, wodurch Kaliumhexacyanoferrat(II) erzeugt wird, welches direkt an der Elektrode des Biosensors bestimmt werden kann. Ein Enzym, wie im Fall der Glukosebestimmung, ist hier nicht notwendig, da der Mediator direkt mit dem Hämoglobin reagiert. In der Praxis kann so die Bestimmung des Hämatokritwerts eines Patienten mit ähnlichen Messgeräten wie bei der Blutzuckerkontrolle durchgeführt werden, wodurch sich die zeitaufwendige Verwendung von Kapillarröhrchen und Zentrifuge erübrigt.

Das Cab-O-Sil LM 150 besteht aus kleineren Partikeln als H5, die daher stabiler sind und nicht durch den mechanischen Stress beim Druckprozess beschädigt werden. Dieser Viskositätsmodifizierer ist daher für die Herstellung einer Membran für Blutzuckersensoren bestens geeignet.

Entsprechend der obigen Ausführung ist die Differenz der Siedepunkte zwischen Lösungsmittel und Porenbildner neben der Stabilisierung des Polymerskeletts durch den Viskositätsmodifizierer von Bedeutung für die Ausbildung einer geeigneten Membran. Hierbei sollte die Differenz etwa 30 °C betragen, damit im Trocknungsprozess ein Film ausgebildet wird, der eine ausreichend hohe Konzentration an Porenbildner enthält, indem das Membranpolymer ausfallen kann. Bei geringeren Siedepunktsdifferenzen beginnt der Porenbildner zu verdampfen, bevor ein kritisches Verhältnis zwischen Lösungsmittel und Po-

renbildner erreicht wird, welches das Ausfallen des Membranpolymeren bewirkt.

Nach Aufdrucken der siebdruckfähigen Paste mit der zuvor beschriebenen Zusammensetzung und Verdampfen des Lösungsmittels bildet sich durch Ablagerung der Zelluloseester eine Membran mit einer durchschnittlichen Porengröße von 0,1 bis 2 μm , wobei die Porengröße durch die verwendete Menge des langkettigen Alkohols beeinflusst werden kann. Eine elektronenmikroskopische Aufnahme der Membran ist in Figur 3b wiedergegeben. Da die Erythrozyten eine durchschnittliche Größe von 8 bis 10 μm aufweisen, werden sie durch die Membran von der Enzymschicht zurückgehalten, während das Plasma ungehindert passieren kann. Zusätzlich trägt die Membran zur mechanischen Stabilität der Enzymschicht bei und verhindert, dass sich das Enzym beim Auftragen der Blutprobe von der Elektrode ablöst und dann nicht mehr für die elektrochemische Reaktion zur Verfügung steht.

In Figur 4 wird anhand einer Messreihe verdeutlicht, dass bei konstanter Glucosekonzentration der mit einer erfindungsgemäßen Membran versehene Teststreifen im Gegensatz zu einem Teststreifen ohne Membran bei steigenden Hämatokritwerten gleichbleibende Ergebnisse liefert, während bei dem Teststreifen ohne Membran die Antwort bei steigender Erythrozytenkonzentration abnimmt. Aufgrund der erhöhten Diffusionsbarriere zwischen der Enzymschicht und der Blutprobe ist die Antwort bei dem Sensor mit Membran insgesamt etwas verringert.

Die Erfindung wird anhand der folgenden Beispiele verdeutlicht.

Herstellung der Druckpaste:

Entsprechend den in den folgenden Beispielen angegebenen Mengenverhältnissen wird eine Mischung aus dem Lösungsmittel (z.B. Hydroxymethylpenanon, Dioxan) und dem Porenbildner

(z.B. Octanol, MPD) hergestellt, damit eine gleichmäßige Verteilung beider Substanzen gewährleistet ist. Im nächsten Schritt werden alle Additive (z.B. PVP/VA) zugefügt und, falls erforderlich, mit Hilfe von Ultraschall aufgelöst. Anschließend wird das Membranpolymer (Zelluloseacetat 50 kDa) zügig unter das zuvor hergestellte Lösungsmittel gemischt, bis eine gleichmäßige Suspension entsteht. Diese Suspension rollt für 48 h in einem verschlossenen Behälter bis ein klares Gel entsteht, dem der Viskositätsmodifizierer (z. B. Cab-O-Sil) zugesetzt werden kann. Die fertige Druckpaste rollt für weiter 24 h, um eine gleichmäßige Verteilung des Viskositätsmodifizierers zu gewährleisten.

Beispiel 1Polymer(e):

Zelluloseacetat (Mw 30000) 7,5 Gew.-%

Lösungsmittel:

Ethylenglycoldiacetat (Sp 186 °C) 65,5 Gew.-%

Porenbildner:

n-Decanol (Sp 231 °C) 25,0 Gew.-%

Viskositätsmodifizierer:

Cab-O-Sil M5 2,0 Gew.-%

Beispiel 2Polymer(e):

Zelluloseacetat (Mw 50000) 8,0 Gew.-%

Lösungsmittel:

1,4-Dioxan (Sp 102 °C) 35,0 Gew.-%

Ethylacetat (Sp 154 °C) 35,0 Gew.-%

Porenbildner:

n-Octanol (Sp 196 °C) 18,0 Gew.-%

Viskositätsmodifizierer:

Cab-O-Sil M5 4,0 Gew.-%

Beispiel 3

Polymer(e):

Zelluloseacetat (Mw 50.000) 8,0 Gew.-%

Lösungsmittel:

1,4-Dioxan (Sp 102 °C) 20,0 Gew.-%

4-Hydroxymethylpentanon (Sp 165 °C) 56,0 Gew.-%

Porenbildner:

n-Octanol (Sp 196 °C) 12,0 Gew.-%

Viskositätsmodifizierer:

Cab-O-Sil M5 4,0 Gew.-%

Additive:

PVP/VA 0,1 Gew.-%

Beispiel 4

Polymer(e):

Zelluloseacetat (Mw 50.000) 7,4 Gew.-%

Lösungsmittel:

1,4-Dioxan (Sp 102 °C) 18,5 Gew.-%

4-Hydroxymethylpentanon (Sp 165 °C) 55,6 Gew.-%

Porenbildner:

2-Methyl-2,4-pentandiol 14,8 Gew.-%

Viskositätsmodifizierer:

Cab-O-Sil M5

3,7 Gew.-%

Additive:

PVP/VA

0,1 Gew.-%

Figur 5 zeigt die klinische Performanz von Blutglucose-sensoren

- a) ohne Polymermembran
- b) mit Polymermembran (Zusammensetzung gemäß Beispiel 2)
- c) mit Polymermembran (Zusammensetzung gemäß Beispiel 3)
- d) mit Polymermembran (Zusammensetzung gemäß Beispiel 4).

Bei den vergleichenden klinischen Untersuchungen wurden die Messergebnisse der unterschiedlichen Sensortypen mit den Messergebnissen der Referenzmethode (YSI Model 2300 Stat Plus) verglichen und die prozentuale Abweichung über die Hämatokritwerte der einzelnen Blutproben aufgetragen. Im Idealfall ergibt sich eine Messsgerade horizontal zur x-Achse. Die Steigung dieser Messgeraden, welche in Tabelle 1 wiedergegeben ist, gibt Aufschluss über die Hämatokritinterferenz des verwendeten Sensorsystems.

Tabelle 1

	Steigung der Messgeraden	Steigung in %
Typ 1 (keine Membran)	-0,8253	100 %
Typ 2 (Membran aus Beispiel 2)	-0,4681	56 %
Typ 3 (Membran aus Beispiel 3)	-0,2946	35 %
Typ 4 (Membran aus Beispiel 4)	-0,0273	3,3 %

Die Daten lassen eindeutig die überlegene Performanz des Sensorsystems mit der bevorzugten Membran (Zusammensetzung gemäß Beispiel 4) erkennen. Diese Verbesserung wird durch die Separation von Vollblut und Plasma unmittelbar vor der Elektrode erreicht, da sich die Nernstsche Diffusionsschicht vor der Elektrode nicht mehr in den Bereich mit Erythrozyten ausdehnt und daher auch nicht mehr durch unterschiedliche Hämatokritwerte beeinflusst werden kann.

In den folgenden Vergleichsbeispielen werden Druckpasten beschrieben, bei denen keine geeignete Abstimmung zwischen dem Porenbildner, den Lösungsmitteln und dem Viskositätsmodifizierer besteht.

Vergleichsbeispiel 1

Polymer(e):

Zelluloseacetat (Mw 50.000)

8,0 Gew.-%

Lösungsmittel:

Ethylenglycoldiacetat (Sp 186 °C)	76,0 Gew.-%
<u>Porenbildner:</u>	
n-Octanol (Sp 196 °C)	12,0 Gew.-%
<u>Viskositätsmodifizierer:</u>	
Cab-O-Sil M5 (hydrophil)	4,0 Gew.-%
<u>Additive:</u>	
PVP/VA	0,1 Gew.-%

Vergleichsbeispiel 2

<u>Polymer(e):</u>	
Zelluloseacetat (Mw 50.000)	8,0 Gew.-%
<u>Lösungsmittel:</u>	
1,4-Dioxan (Sp 102 °C)	20,0 Gew.-%
4-Hydroxymethylpentanon (Sp 165 °C)	56,0 Gew.-%
<u>Porenbildner:</u>	
n-Octanol (Sp 196 °C)	12,0 Gew.-%
<u>Viskositätsmodifizierer:</u>	
Cab-O-Sil TS720 (hydrophob)	4,0 Gew.-%
<u>Additive:</u>	
PVP/VA	0,1 Gew.-%

Vergleichsbeispiel 3

<u>Polymer(e):</u>	
Zelluloseacetatpropionat (Mw 75.000)	8,0 Gew.-%
<u>Lösungsmittel:</u>	
1,4-Dioxan (Sp 102 °C)	20,0 Gew.-%

4-Hydroxymethylpentanon (Sp 165 °C) 56,0 Gew.-%

Porenbildner:

n-Octanol (Sp 196 °C) 12,0 Gew.-%

Viskositätsmodifizierer:

Cab-O-Sil M5 (hydrophil) 4,0 Gew.-%

Additive:

PVP/VA 0,1 Gew.-%

In Vergleichsbeispiel 1 wird aufgrund der zu geringen Differenz der Siedepunkte von in der Druckpaste verwendetem Lösungsmittel (Ethylenglycoldiacetat) und Porenbildner (n-Octanol) keine poröse Membran ausgebildet. Wird hingegen n-Decanol als Porenbildner verwendet (wie in Beispiel 1 beschrieben) erhält man eine poröse Membran nach dem Trocknungsprozess, da der Siedepunkt zwischen dem Lösungsmittel und dem Porenbildner ausreichend groß ist.

In Vergleichsbeispiel 2 findet aufgrund der Verwendung von hydrophobem Cab-O-Sil, welches nicht in der Lage ist, mit den OH-Gruppen des Porenbildners zu reagieren, nur eine unzureichende Gelbildung zwischen dem Porenbildner und dem Viskositätsmodifizierer und somit keine ausreichende Stabilisierung des Polymerskeletts statt. Dadurch wird die Bildung einer porösen Membran verhindert.

Auch in Vergleichsbeispiel 3, wo das verwendete Polymere (Zelluloseacetatpropionat) eine zu hohe Löslichkeit in dem Porenbildner aufweist, wird keine poröse Membran ausgebildet.

Ansprüche

1. Siebdruckfähige Paste zur Herstellung einer porösen Polymermembran, enthaltend wenigstens ein Polymeres, ein oder mehrere Lösungsmittel für das Polymere mit einem Siedepunkt von $> 100^{\circ}\text{C}$, ein oder mehrere Nichtlösungsmittel (Porenbildner) für das Polymere mit einem höheren Siedepunkt als das/die Lösungsmittel und einen hydrophilen Viskositätsmodifizierer.

2. Siebdruckfähige Paste gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Differenz der Siedepunkte von Lösungsmittel und Porenbildner wenigstens 30°C beträgt.

3. Siebdruckfähige Paste gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Paste als Polymeres Zelluloseacetat enthält.

4. Siebdruckfähige Paste nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Paste als Lösungsmittel 1,4-Dioxan und/oder 4-Hydroxymethylpentanon und/oder Ethylacetat enthält.

5. Siebdruckfähige Paste nach wenigstens einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Paste als Porenbildner einen langkettigen Alkohol enthält.

6. Siebdruckfähige Paste nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Paste als Porenbildner n-Octanol und/oder 2-Methyl-2,4-pentandiol enthält.

7. Siebdruckfähige Paste nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass n-Octanol und/oder 2-Methyl-2,4-pentandiol mit einem Anteil von 5 - 20 Gew.-% enthalten ist.

8. Siebdruckfähige Paste nach wenigstens einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Paste als Viskositätsmodifizierer hydrophiles Kiesel-Xerogel enthält..

9. Siebdruckfähige Paste gemäß Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Kiesel-Xerogel mit einem Anteil von 1 - 10 Gew.-% enthalten ist.

10. Siebdruckfähige Paste nach wenigstens einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Paste außerdem Vinylpyrolidon-Vinylacetat-Copolymere (PVP/VA) und/oder Polyvinylpyrolidon (PVP) enthält.

11. Siebdruckfähige Paste nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass das PVP/VA bzw. PVP mit einem Anteil von 0,1 Gew.-% enthalten ist.

12. Siebdruckfähige Paste nach wenigstens einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Paste außerdem ein oder mehrere Enzyme enthält.

13. Verfahren zur Herstellung einer siebdruckfähigen Paste, in dem man

eine Mischung aus einem oder mehreren Lösungsmittel(n) für ein Polymeres und einem oder mehreren Nichtlösungsmittel(n) für ein Polymeres (Porenbildner) herstellt,

das Polymere bis zum Entstehen einer gleichmäßigen Suspension untermischt,

die Suspension bis zum Entstehen eines klaren Gels rollt,

einen hydrophilen Viskositätsmodifizierer zugibt und das ganze bis zur gleichmäßigen Verteilung des Viskositätsmodifiziereres rollt.

14. Verwendung der Paste nach wenigstens einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Herstellung einer porösen Polymermembran.

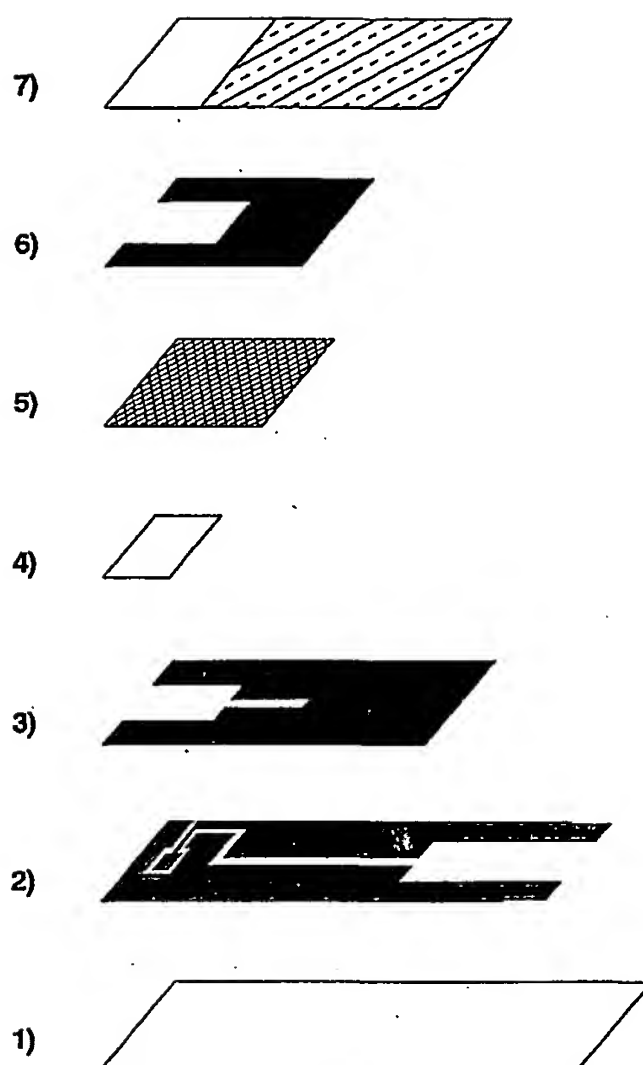
15. Verwendung gemäß Anspruch 14, wobei die Polymermembran in einen Biosensor-Teststreifen eingebracht wird.

16. Verwendung gemäß Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Biosensor zur Messung der Blutglucosekonzentration ausgebildet ist.

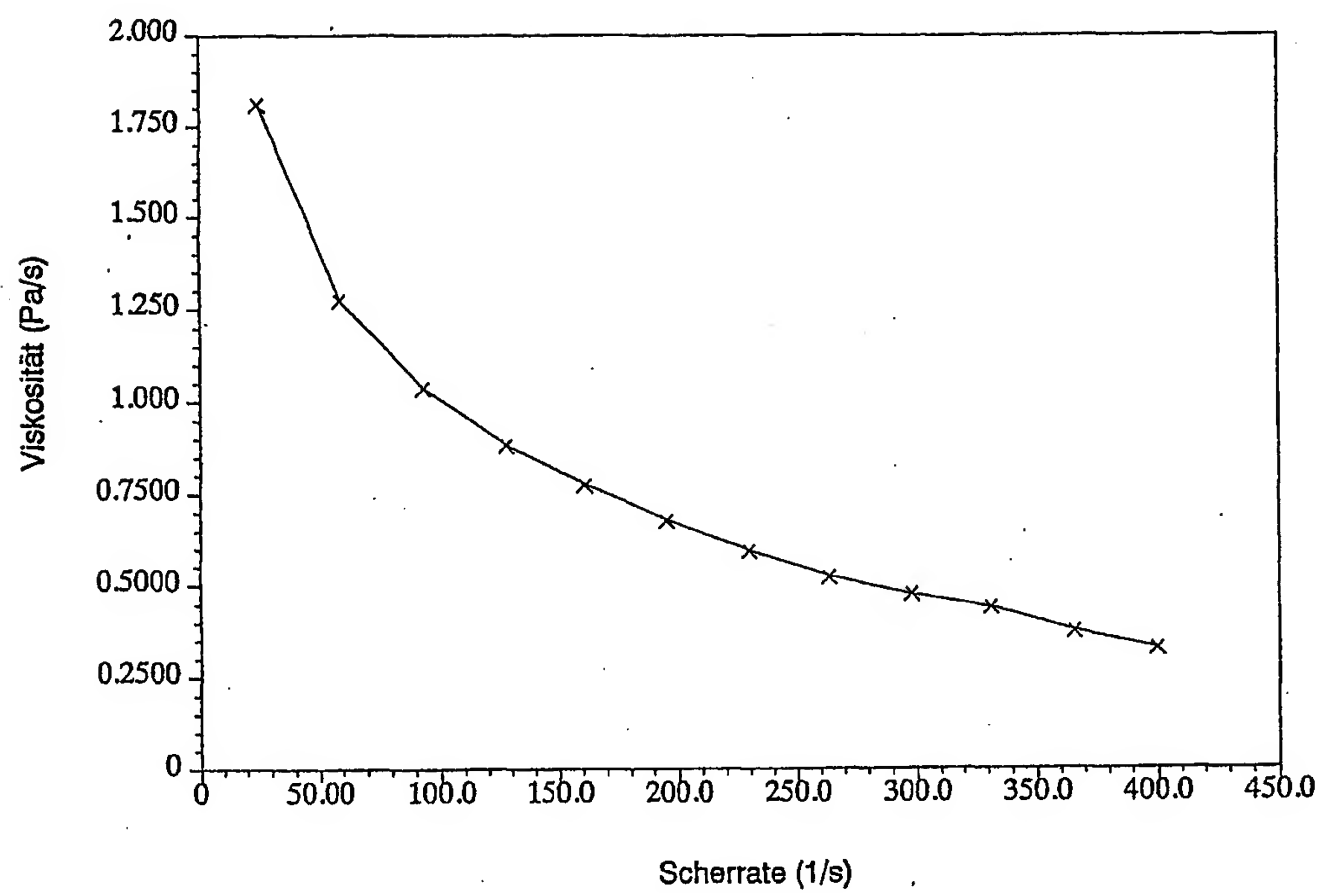
17. Verwendung gemäß Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Biosensor zur Bestimmung des Hämatokritwerts ausgebildet ist.

18. Poröse Polymermembran, hergestellt aus der siebdruckfähigen Paste gemäß wenigstens einem der Ansprüche 1 bis 12.

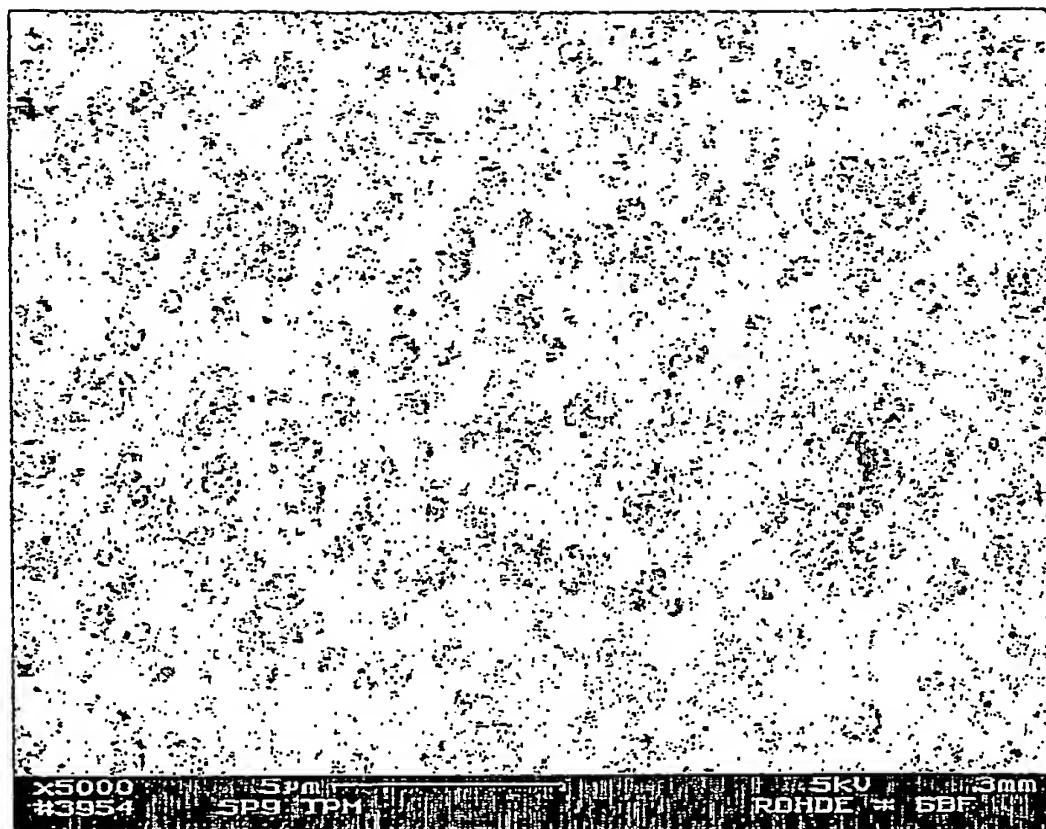
Figur 1



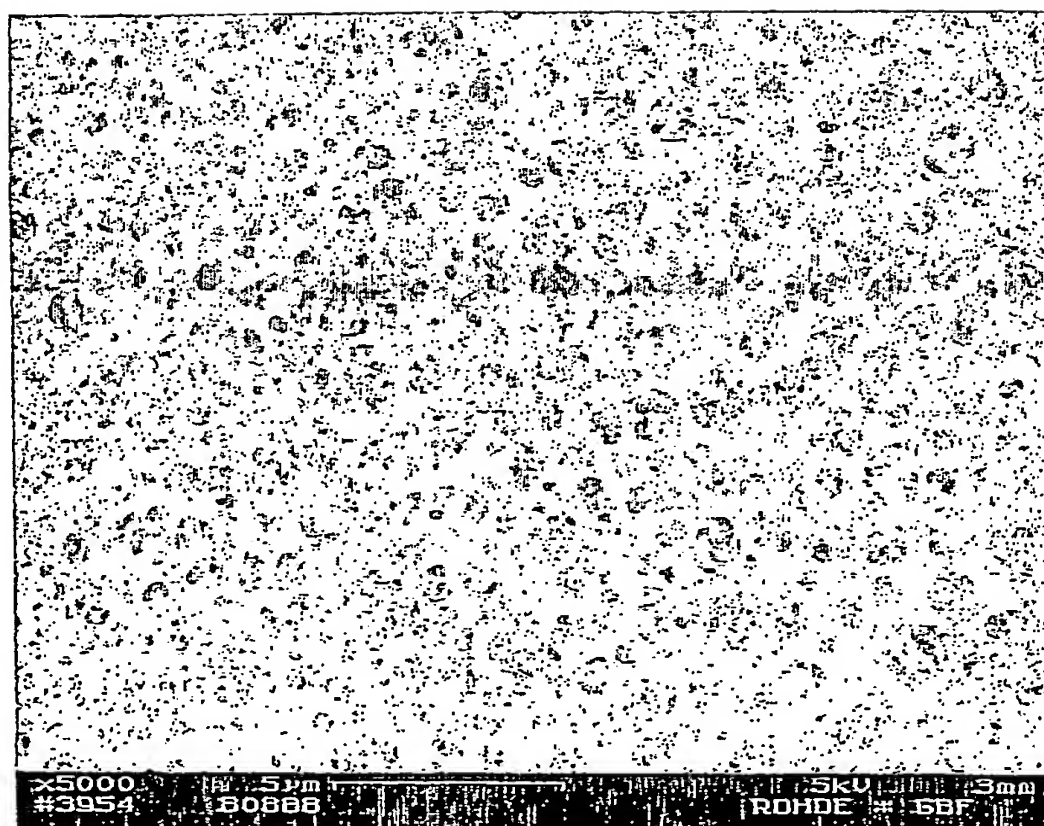
Figur 2



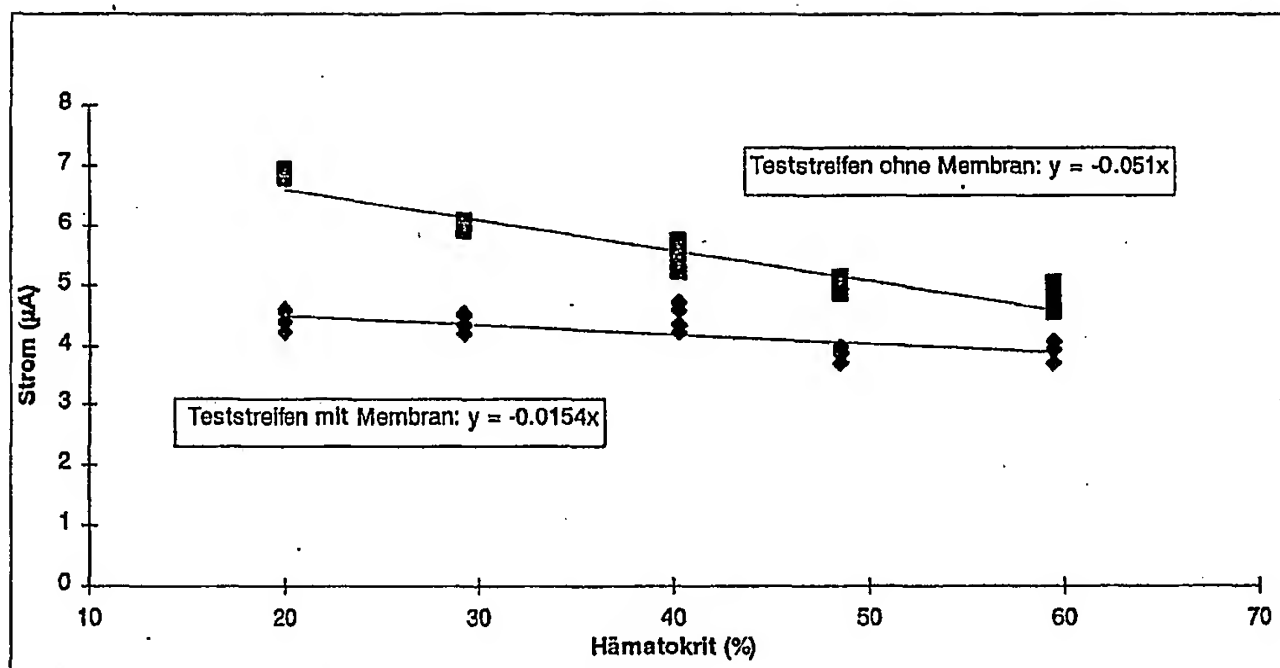
Figur 3a



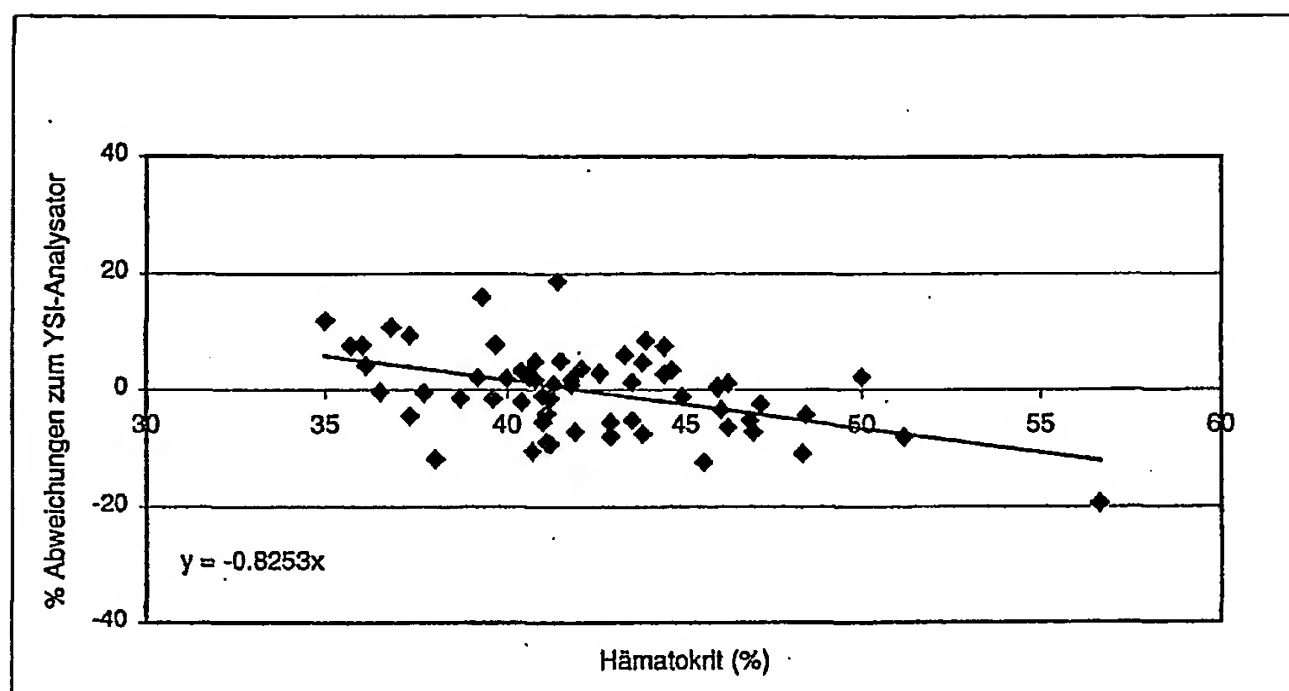
Figur 3b



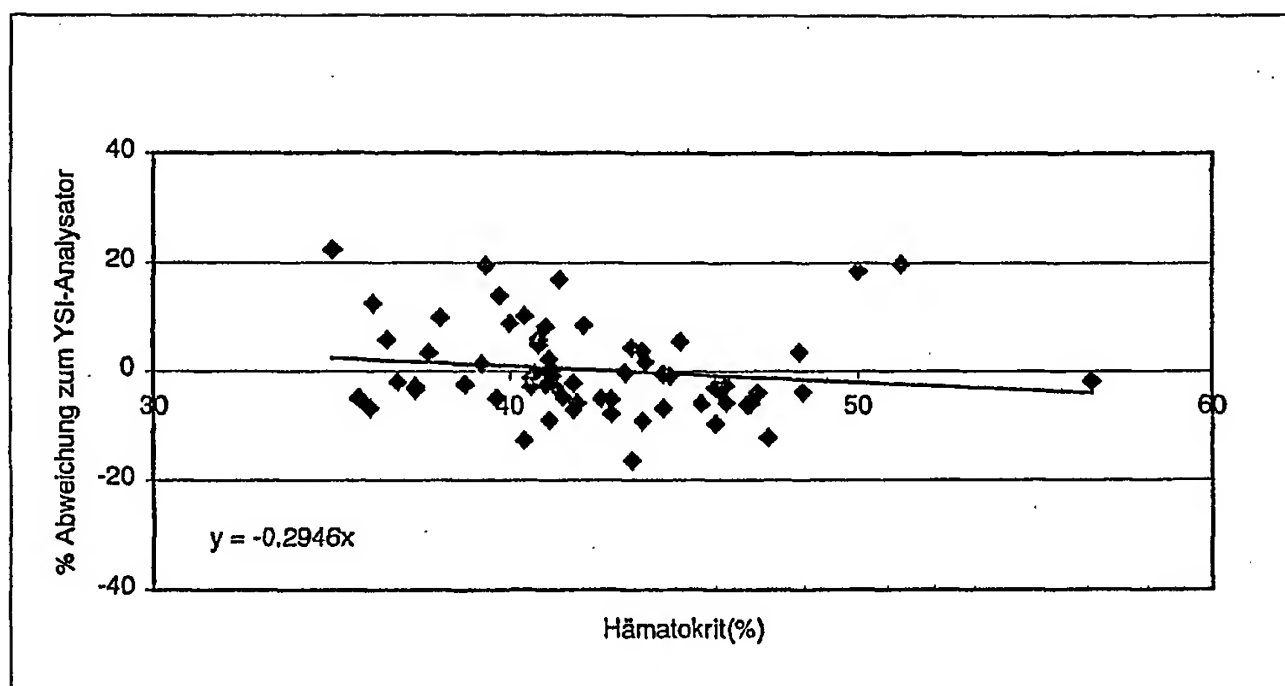
Figur 4



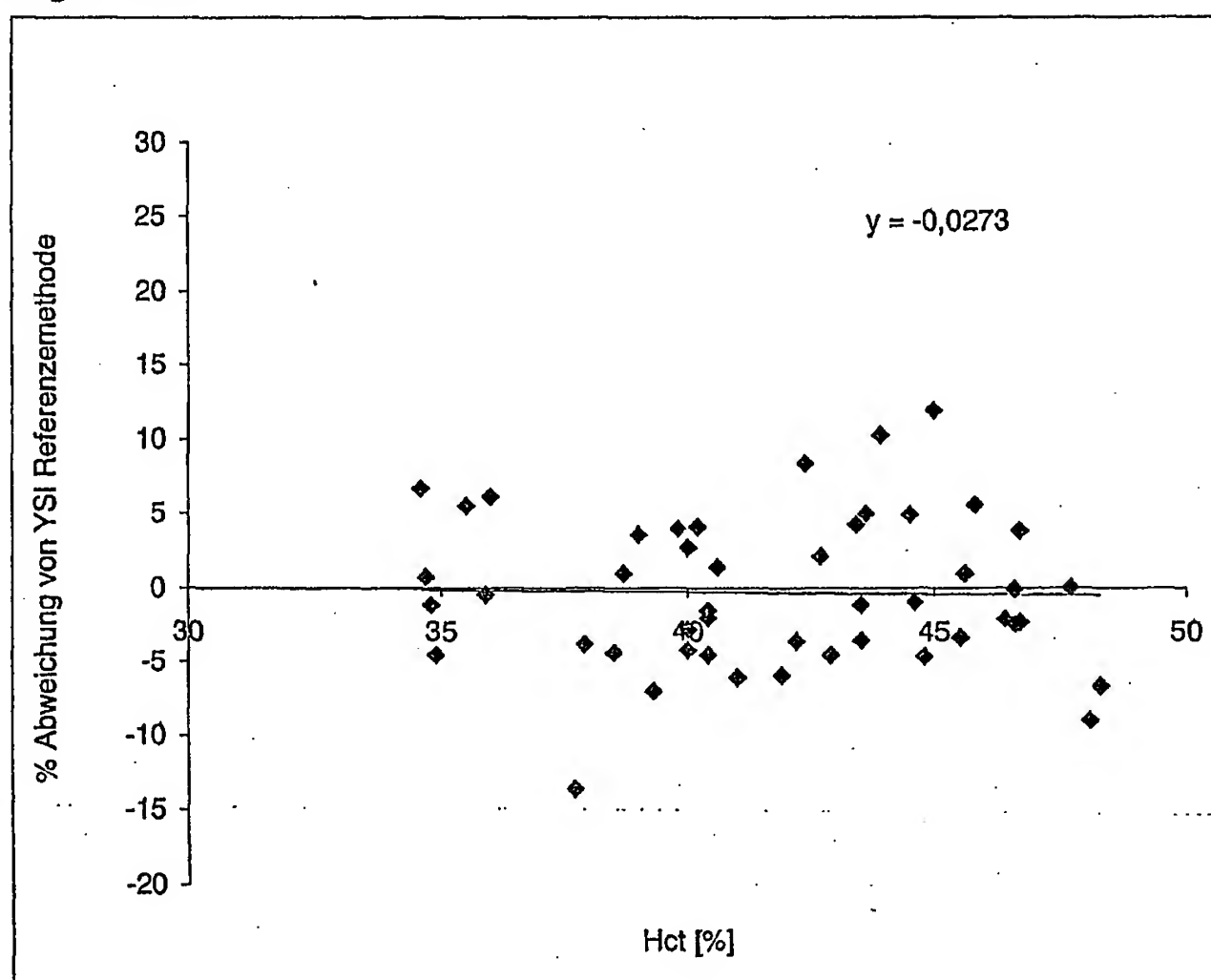
Figur 5a



Figur 5c



Figur 5d



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 01/12073

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 B01D71/10 B01D71/16 B01D69/12 B01D69/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01D C12Q G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 658 444 A (MEDISENSE, INC.) 19 August 1997 (1997-08-19) cited in the application the whole document ---	1, 3, 14, 18
X	US 5 607 566 A (R.B. BROWN ET AL.) 4 March 1997 (1997-03-04) column 4, line 57 -column 5, line 30; examples 1-5 ---	1, 13, 14, 18
A	US 4 425 263 A (N. NAZARENKO) 10 January 1984 (1984-01-10) the whole document -----	1-18

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 March 2002

Date of mailing of the international search report

14/03/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Luethe, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. Application No.

PCT/EP 01/12073

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
US 5658444	A	19-08-1997	AU	6685694 A	12-12-1994
			CA	2162045 A1	24-11-1994
			DE	69411732 D1	20-08-1998
			DE	69411732 T2	25-02-1999
			EP	0698206 A1	28-02-1996
			WO	9427140 A1	24-11-1994
US 5607566	A	04-03-1997	US	5102526 A	07-04-1992
			AU	678138 B2	22-05-1997
			AU	2482592 A	16-03-1993
			CA	2115919 A1	04-03-1993
			EP	0599975 A1	08-06-1994
			JP	7502807 T	23-03-1995
			WO	9304359 A1	04-03-1993
			US	5417835 A	23-05-1995
			AU	645724 B2	20-01-1994
			AU	7791391 A	27-11-1991
			CA	2081915 A1	03-11-1991
			EP	0527188 A1	17-02-1993
			WO	9117430 A1	14-11-1991
			AU	671253 B2	22-08-1996
			AU	8081191 A	27-11-1991
			EP	0527210 A1	17-02-1993
			WO	9117432 A1	14-11-1991
US 4425263	A	10-01-1984	CA	1190735 A1	23-07-1985
			DE	3261688 D1	07-02-1985
			DK	248682 A	04-12-1982
			EP	0068168 A1	05-01-1983
			GR	76440 A1	10-08-1982
			IE	53207 B1	31-08-1988
			JP	1303901 C	28-02-1986
			JP	58001745 A	07-01-1983
			JP	60025055 B	15-06-1985

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intel nales Aktenzeichen

PCT/EP 01/12073

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 B01D71/10 B01D71/16 B01D69/12 B01D69/14

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 B01D C12Q G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 658 444 A (MEDISENSE, INC.) 19. August 1997 (1997-08-19) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument ---	1,3,14, 18
X	US 5 607 566 A (R.B. BROWN ET AL.) 4. März 1997 (1997-03-04) Spalte 4, Zeile 57 -Spalte 5, Zeile 30; Beispiele 1-5 ---	1,13,14, 18
A	US 4 425 263 A (N. NAZARENKO) 10. Januar 1984 (1984-01-10) das ganze Dokument -----	1-18

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

7. März 2002

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

14/03/2002

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Luethe, H

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 01/12073

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5658444 A	19-08-1997	AU 6685694 A	12-12-1994
		CA 2162045 A1	24-11-1994
		DE 69411732 D1	20-08-1998
		DE 69411732 T2	25-02-1999
		EP 0698206 A1	28-02-1996
		WO 9427140 A1	24-11-1994
US 5607566 A	04-03-1997	US 5102526 A	07-04-1992
		AU 678138 B2	22-05-1997
		AU 2482592 A	16-03-1993
		CA 2115919 A1	04-03-1993
		EP 0599975 A1	08-06-1994
		JP 7502807 T	23-03-1995
		WO 9304359 A1	04-03-1993
		US 5417835 A	23-05-1995
		AU 645724 B2	20-01-1994
		AU 7791391 A	27-11-1991
		CA 2081915 A1	03-11-1991
		EP 0527188 A1	17-02-1993
		WO 9117430 A1	14-11-1991
		AU 671253 B2	22-08-1996
		AU 8081191 A	27-11-1991
		EP 0527210 A1	17-02-1993
		WO 9117432 A1	14-11-1991
US 4425263 A	10-01-1984	CA 1190735 A1	23-07-1985
		DE 3261688 D1	07-02-1985
		DK 248682 A	04-12-1982
		EP 0068168 A1	05-01-1983
		GR 76440 A1	10-08-1982
		IE 53207 B1	31-08-1988
		JP 1303901 C	28-02-1986
		JP 58001745 A	07-01-1983
		JP 60025055 B	15-06-1985